

ется заметным количеством выделяющегося водорода.

В щелочной среде большая потеря массы электрода связана с химическим взаимодействием металла с электролитом, при этом на долю электрохимических потерь приходится примерно 10%. Масса потерь металла, рассчитанная по количеству выделившегося водорода сопоставима с массой химических потерь.

удаление кислорода из раствора не повлияло на характер коррозионного процесса.

ВЫВОДЫ

1. Проведены исследования электрохимического поведения алюминия в щелочных растворах с разным рН.

2. Показано, что скорость растворения алюминия зависит в щелочных средах от природы катиона и определяется растворимостью алюмината.

3. В щелочных средах основной вклад в коррозионные потери металла вносит химическая стадия взаимодействия алюминия со средой.

ПОЛИМЕРНЫЕ АДсорбЕНТЫ АФФИННОГО ТИПА В ИССЛЕДОВАНИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ. XXV. НОВЫЕ АЗОЭПОКСИАДсорбЕНТЫ НА ОСНОВЕ ВАНИЛИНГИДРАЗОНОВ О-(ОКСИ,АМИНО)ЗАМЕЩЕННЫХ БЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ В НЕКЛАССИЧЕСКОЙ АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

В.В. Халахин, А.А. Дудин, П.В. Кузнецов

В настоящей работе впервые использовали в качестве аффинных лигандов ванилин гидразоны о-(окси,амино)замещенных бензойных кислот. В качестве эпоксиазоадсорбента применялась сефароза 4В, эпоксиактивированная реактивом Хуберта (диглицидиловый эфир 1,2-этандиола). Один из полученных эпоксиазоадсорбентов (на основе ванилингидразона салициловой кислоты) использовали для хроматографического изучения препарата Танакан методом неклассической аффинной хроматографии. Показано, что хроматографическое разделение экстракта Гинкго Билоба на ключевые фракции наблюдалась только на азоэпоксиадсорбенте.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что разнообразные азоэпоксиадсорбенты аффинного типа (азо-ААФТ) хорошо зарекомендовали себя в очистке и анализе природных соединений, в том числе некоторых типов флавоноидов (ФЛ). Так, методом неклассической аффинной хроматографии (НАФХ) удалось не только успешно разделять 5-7 компонентные смеси ФЛ, но и выделять их высокочистые глюкуронидные ФЛ-аналоги [1].

Недавно нами, для отделения (и накопления) флавоноидной фракции экстракта Гинкго Билоба (ЭГБ) из ряда препаратов, рекомендован азо-ААФТ на основе 4-аминоантипирина [2]. В работе [3] сообщается о возможности применения йодированных производных ванилингидразонов антралиновой кислоты (ВГАНК) в качестве оригиналь-

ных лигандов в методе аффинной хроматографии для изучения белков сыворотки крови человека.

Цель данной работы: синтез новых азо-ААФТ на основе ВГАНК (и его салицилового аналога), и их применение в исследовании ФЛ-фракции ЭГБ (препарат Танакан).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали гидразиды салициловой кислоты (Вектон, Россия), антралиновой кислоты (Пермская государственная фармацевтическая академия, образец лаборатории проф. А.Г. Михайловского), сефароза 4В (Pharmacia, Швеция), диглицидиловый эфир 1,2 – этандиола (ДГЭЭД, реактив Хуберта, г. Новосибирск). Ванилин и другие реактивы и реагенты квалификации ч.д.а. или х.ч.

ПОЛИМЕРНЫЕ АДСОРБЕНТЫ АФФИННОГО ТИПА В ИССЛЕДОВАНИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Синтез ванилингидразонов (ВГ) проводили по следующей общей методике. 0,0002 моля ванилина и гидразида салициловой (антралиновой) кислоты смешивали при нагревании 40°C-50°C, подкисляли 1-2 каплями ледяной уксусной кислоты, интенсивно перемешивали и после формирования осадка убирали в холодильник (температура 4 °С) на ночь. Затем фильтровали и высушивали, при необходимости перекристализовывали из водного этанола.

Ванилингидразон салициловой кислоты (ВГСК) – кристаллический бесцветный продукт (УФ – спектр / вода дистиллированная, 0,00005 М раствор / λ_{\min} 265нм, λ_{\max} 330нм) ВГАНК – зеленовато-желтое вещество (УФ-спектр / вода дистиллированная 0,00005 М раствор/ λ_{\min} 265нм, λ_{\max} 330нм с плечом ~360 нм). Синтезированные ванилингидразоны дают четкую реакцию азосочетания с солью диазотия новокаина.

Азо-ААфТ на основе ВГ получали на ДГЭЭД-активированной сефарозе по известному п-аминофенольному пути, описанному ранее в работе [4]. Емкость эпоксиносителя по эпоксигруппам составила не менее 12 мкмоль/мл геля. Полученный на основе ВГСК азо-ААфТ окрашен в желто-палевый цвет (рН 7,0) и легко дает дитионитную пробу на азосвязь[4].

Хроматографию ЭГБ (Танакан, таблетки 0,4, №30, Бофур Ипсен Индастри Dгеux. France, серия P544) проводили на колонках (Pharmacia 125×5 мм) с объемом адсорбента 5-7 мл. Адсорбент промывали на стеклянном фильтре дистиллированной водой 200 мл, затем 0,1 н раствором NaOH 50 мл, 100 мл воды дистиллированной и 50 мл 0,1 н HCl и окончательно отмывали водой дистиллированной до рН 7 (по универсальному индикатору) промывных вод. Подготовленный адсорбент переносили в колонку с последующей упаковкой геля.

Элюцию проводили водой с последующей заменой элюента на насыщенный раствор натрия тетрабората, 0,01н раствор натрия гидроксида и далее 0,05 н раствор натрия гидроксида, 50% раствор ацетонитрила.

Элюент собирали с помощью коллектора фракций DOMBIFRAC D-002 (Россия) объемом по 3 мл. Скорость элюции - 0,3-0,4 мл/мин.

Детектирование проводили методом УФ-спектроскопии при длине волны 230 нм, 250 нм и 270нм. Идентификацию хроматографических пиков осуществляли спектрофотометрически (СФ-26 Россия) по известным литературным данным [6].

ПОЛЗУНОВСКИЙ ВЕСТНИК № 3 2008

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хорошо известно, что препарат фтивазид (ванилингидразон изоникотиноилгидразида) окрашен в желтовато-зеленый цвет, дает характерные цветные реакции на фенольный гидроксил [5], имеет УФ-спектр в хлористоводородной кислоте λ_{\max} 229, 274, 309 нм, λ_{\min} 247,298 нм. По нашему мнению, отсутствие желтовато-зеленой окраски у салицилового аналога (см. экспериментальную часть) связано с существенным ослаблением сопряжения у фрагмента с азометиновой связью, за счет так называемого орто-эффекта (сильная внутримолекулярная водородная связь).

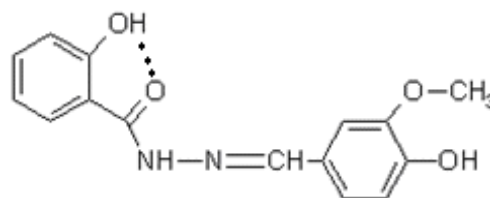


Рисунок 1. Структура ВГСК с внутримолекулярной водородной связью

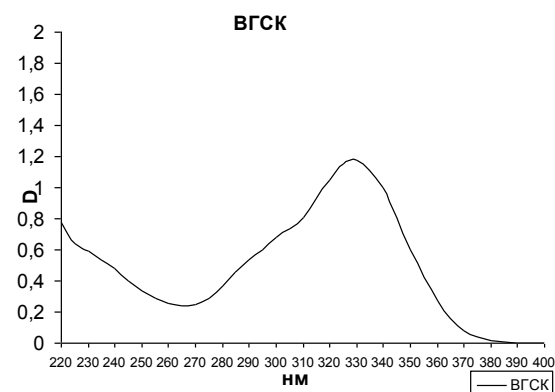


Рисунок 2. УФ-спектр ВГСК (перекристаллизованный из водного этанола)

Это подтверждается и данными УФ-спектров полученных ВГ, рисунки 2,3. Полученные азоэпокси-ААфТ, по данным [4], обладают четким индикаторным эффектом - при рН>7,0 гель окрашен в розовый цвет. Все вышеприведенные данные о структуре ВГСК и ВГАНК позволяют считать строение сконструированных азо-ААфТ следующим (см. рисунок 4).

Использование азо-ААфТ с лигандом ВГСК в методе НАФХ для хроматографии ЭГБ показано на рисунках 5, 6. В качестве контрольного сорбента использовали немодифицированную агарозу 4В.

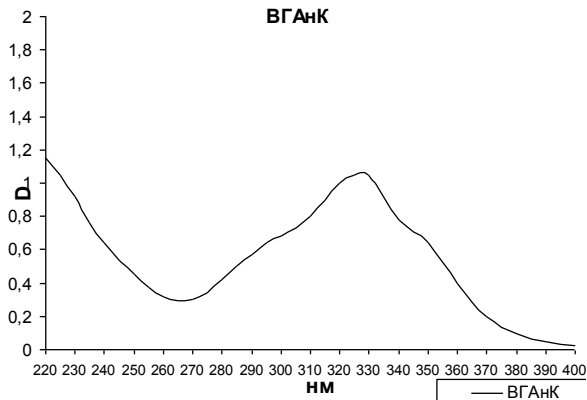
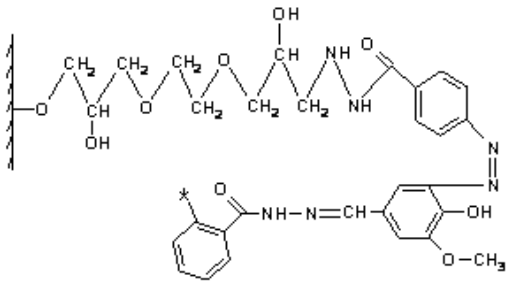


Рисунок 3. УФ-спектр ВГАНК (перекристаллизованный из водного этанола)



где * -OH, -NH₂

Рисунок 4. Химическая структура синтезированных азо-ААФТ

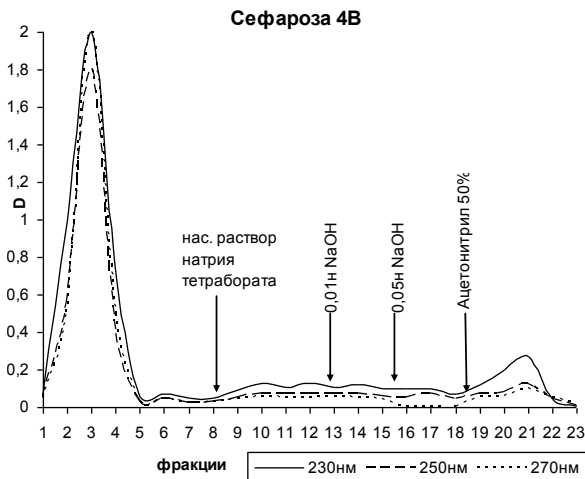


Рисунок 5. Хроматограмма ЭГБ на сефарозе 4В

На колонки наносили по 1 мл 50% спиртового экстракта препарата Танакан, с последующей элюцией (см. экспериментальную часть). Показано, что на немодифицированной агарозе 4В образец разделился только на 2 основные фракции, в то время как, для азо-ААФТ наблюдается разделение на 3 фракции (см. рисунки 5,6).

УФ-спектры основных фракций, полученных с азо-ААФТ с лигандом ВГСК, показаны

ли, что только фракция 2 и 3 представлены (судя по УФ-спектрам) флавоноидными компонентами препарата Танакан. По нашему мнению фракция 1 контрольного сорбента является смесью гинколидной и флавоноидной части ЭГБ, то есть их разделение в данных экспериментальных условиях отсутствует.

Дальнейшее исследование найденного феномена продолжается.

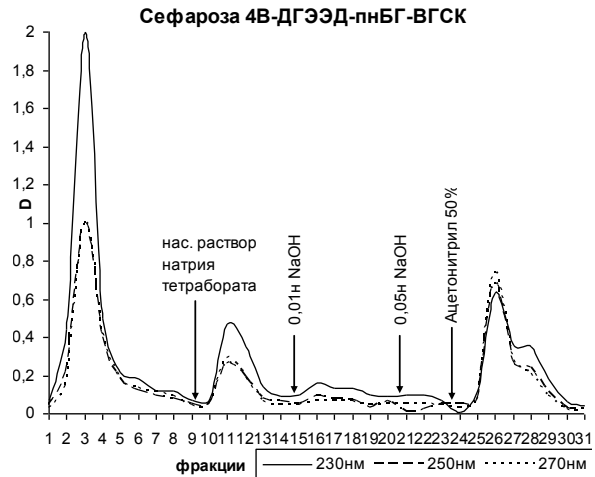


Рисунок 6. Хроматограмма на сефарозе 4В-ДГЭЭД-пнБГ-ВГСК

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящей работе впервые показана возможность (на примере изучения ЭГБ) использования в методе НАФХ оригинальных азо-ААФТ (на основе ВГ) для изучения ФЛ и их производных.

Определенный интерес представляет - в перспективе - применение йодированных производных аналогов этих азо-ААФТ для разделения и очистки тироксинсвязывающих белков сыворотки крови.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Теслов Л.С., Кузнецов П. В., Энгельман Е.В. Полимерные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ. XVII. Разделение флавоноидов и некоторых родственных соединений методом неклассической аффинной хроматографии. //Растительные ресурсы. Вып. 4. 2001.-130-140с.
2. Сухих А.С., Гуров Е.А., Кузнецов П.В. Азо-адсорбенты аффинного типа на основе полисахаридного геля универсального назначения //Материалы Общероссийской с международным участием научной конференции: Полифункциональные химические материалы и технологии. – Томск, 2007.- 258-260 с.

ПОЛИМЕРНЫЕ АДСОРБЕНТЫ АФФИННОГО ТИПА В ИССЛЕДОВАНИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

3. Дудин А. А. Кузнецов П.В. Ванillinгидразоны йодзамещенных производных о-амино(гидрокси)-бензойных кислот - оригинальный реагент аффинного синтеза //Химия XXI век новые технологии: Доклады XXI международной конференции.- Кемерово, 2008. – 292-293 с.
4. Кузнецов П. В. Эпоксидированные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ. Кемерово. Кузбассвузиздат, 2002.-104с.
5. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. М.:Медпресс-информ,2007.-621с.
6. Repolles, C., Herrero- Martinez JM., Rafols C. Analysis of prominent flavonoid aglycones by high-performance liquid chromatography using a monolithic type column. J. Sep. Sci. 2006 May;29(8):1174-9